

实验研究

“恐伤肾”母鼠的行为与生殖功能的实验研究

王米渠¹ 段光周¹ 马向东¹ 徐 川¹ 夏厚林¹ 颜世富²

摘要 设计实验猫吓母鼠,恐伤其肾,实验组、对照组各 24 只。通过对两组母鼠的巷道取食测试、尾悬挂测试等行为实验,并计算母鼠的生殖率,每窝初生鼠体重,每只初生鼠的平均体重,五项测试均有着显著性差异和极显著性差异。本实验采用心理行为测试法以研究中医藏象学说,是中医实验研究的一个新途径。

关键词 肾病/心理学 惊恐 生殖

“猫吓鼠”恐伤肾,既符合中医脏象理论,又符合心理行为科学原理,其造模是一个成功的方法,已有学者做了一些工作,尤其是在实验动物本代的下丘脑—垂体—生殖轴系方面的研究,其检测指标主要是生理生化及病理形态方面^[1]。但是中医脏象学说基于构成论的方法,更重视外显行为活动及症状的表征,为此我们移植行为遗传的测量方法,以研究“恐伤肾”对母鼠的行为特征和生殖功能的影响,并测量先天受损的初生子代鼠的体重。

1 材料与方法

1.1 实验动物:昆明种封闭群小白鼠(卫生部成都生物制品研究所提供)72 只,雌鼠 48 只,雄鼠 24 只,按雌雄 2:1 的比例随机分组,进行交配(75 日龄时),在交配 4 天后,取出雄鼠,对雌鼠用猫恐吓,造就恐伤肾的动物模型。

1.2 造模方法:直接将猫笼置于鼠笼上方,使小鼠既能看到猫的形象,又能听到猫的恐叫声,并制造猫抓吃雄鼠或非实验鼠的恐怖场面。实验组每日上午 9~11 时、下午 3~5 时各恐吓一次,每次 2 小时,直到小鼠出生为止,计 14 天。对照组 24 只,置放于远离猫的房间内,其鼠笼环境、饮水饲料均与实验恐吓组相同。所用标准颗粒饲料由卫生部成都生物制品研究所实验动物中心提供。

1.3 测试方法:产子情况:母鼠于 95~99 日龄时先后产子,生产当日即将初生鼠分组称重,并统计“恐伤肾”

组与对照组母鼠的产子率。

巷道取食测试:对未能生子的 18 只母鼠在 98、99 日龄时每天继续进行恐吓刺激,同时仅供其饮水,以便在饥饿状态下作巷道取食测试。巷道取食是行为遗传学的经典测试方法^[2],具体方法:用两根木条,组成 10cm 高、6cm 宽、350cm 长的狭长巷道,先在巷道的末端放置食物,将饥鼠置于巷道末端的食物处(小鼠能臭能见,但吃不到食物)先学习 30 秒钟,然后再将鼠置于巷道的另一端,用秒表计算其爬行到末端食物处所需的时间。对照组除不用猫恐吓外,其它测试方法均同恐吓组。尾悬挂测试:上述两组小鼠结束巷道取食测试后,即进行尾悬挂测试。方法:用小橡皮筋栓住鼠尾,倒悬于一金属棍的末端,在悬挂的初始时期,小鼠的四肢、头部向前后左右不停晃动,但过一定时间后开始失望,活动减少,静止不动时间增多,用秒表计算其在 6 分钟内累计不动的时间^[3]。

2 结果

2.1 巷道取食测试:“恐伤肾”组母鼠虽处饥饿状态,但其在陌生的巷道中行为迟缓犹豫,走走停停,不断嗅巷道内的气息,爬行缓慢,到巷道末端取食时间较长。经连续 2 天(第 1 天上、下午,第 2 天上午)的 2 次测试,18 只未怀孕母鼠测试巷道取食时间平均为 40.83 ± 16.47 秒(均值±标准差,下同),对照组 9 只为 21.67 ± 10.70 秒,经统计学处理,两组巷道取食时间有非常显著性差异($P < 0.01$)。

巷道测试实验中,同时测定鼠排便情况,大便粒数恐吓组平均为 3.1 粒,对照组为 1.9 粒。

2.2 尾悬挂测试:恐吓组 21 只测试,在 6 分钟内四肢头部活动时间较少,为 103.14 ± 55.48 秒,对照组 24 只测试仅为 71.42 ± 41.83 秒,经统计学处理,两组有显著性差异($P < 0.05$)。从外观的活动表现看,对照组小鼠晃动幅度较恐吓组大。

2.3 产仔情况:产仔率:小白鼠的一般产仔时间是交配后 19~21 天。在我们实验中恐吓组产仔时间为 18~20 天,对照组为 19~22 天。恐吓组 24 只母鼠,产仔母鼠 6 只,未产仔母鼠 18 只,产仔率 25%;对照组 24 只

1 成都中医药大学,四川省成都市十二桥(610075)

2 复旦大学

收稿日期:1996-05-07;修回日期:1996-08-20

母鼠,产仔母鼠14只,未产仔母鼠10只,产仔率58%。经统计学处理,恐吓组产仔率明显低于对照组($P<0.05$)。

产仔窝重:恐吓组不仅产仔率低而且每窝产仔数量也较对照组低,恐吓组平均每窝产仔10.0只,平均每窝鼠重量 $15.60\pm1.20\text{g}$;对照组每窝产仔11.2只,平均每窝鼠重量 $18.81\pm1.49\text{g}$ 。恐吓组、对照组比较有显著差异($P<0.05$)。

初生鼠体重:母鼠95~99日龄时先后产仔,生产当时即将初生鼠各组称重。恐吓组初生鼠平均体重 $1.56\pm0.12\text{g}$,对照组初生鼠平均体重 $1.68\pm0.15\text{g}$ 。经统计学处理,两组有显著性差异($P<0.01$)。

3 讨论

基本活动行为降低是恐伤肾的表征之一。恐吓母鼠伤及肾精,损及元气,其生命活动的基本行为水平均有所降低。中医认为,肾为“作强之官”(《素问·灵兰秘典论》),“强”包括体力的强弱,活力的高低。“恐则气下”(《素问·举痛论》),“恐伤肾,其气怯”(《三因极一病证方论》)。强烈的恐吓刺激,必然挫伤机体的气化机能。虽然饥饿取食是任何生物的本能,但由于肾气伤后整体活动能力减弱,而且身居威胁生命的恐怖环境,必有怯弱的心理,所以取食行为与对照组比较,能力下降差异显著。同时恐吓组与对照组比较,进食饲料量也有所减少,如试验最后2天,恐吓组与对照组进食饲料数量之比为 $3.43\text{g}/\text{只}/\text{天}$: $4.42\text{g}/\text{只}/\text{天}$,说明恐吓不仅伤及先天肾气,进而也可损伤后天之本脾胃。所以摄食等的基本行为活动表现低下。

尾悬挂测试的结果显示,恐吓后母鼠静止的时间较对照组延长。恐吓后动物的应激行为一般有两种表现,一是争斗或逃跑,一是退缩不动,前者与应激原抗争或回避,动物本身行为能力较强,故其行为活动量急剧增加,表现为争斗或逃跑,后者由于动物本身行为能力低下,表现为行为退却,处于抑制,甚至木僵状态。恐吓母鼠倒挂悬尾时的表现多属于后者。恐作为一种应激原长期刺激机体,常导致慢性心理应激反应,主要表现为疲劳、消瘦、乏力及一些相应的躯体症状和体征,行为活动能力低下^[4]。中医理论认为“恐伤肾”,“恐惧而不解则伤精,精伤则骨酸痿厥”(《灵枢·本神》)。久恐肾伤,失于“作强”,导致行为活动能力降低,暗合现代应激学说,达到本实验预期结果。

生殖功能下降是恐伤肾表征之二,子代鼠体重减轻是恐伤肾表征之三。

“肾主生殖”,“肾为先天之本”,恐伤肾直接降低了母鼠的生殖能力,使其子代体重减轻,尽管本实验样本

量还不够大但已可看出明显的趋势,如恐吓组母鼠的生存率较对照组降低了50%多,每窝生存数量和每窝仔鼠总重量均较对照组低,因此我们认为上述数据似可作为衡量母鼠肾气损伤的指标之一。

恐伤肾降低母鼠的生殖能力的事实,中医理论可从精、气、神三方面予以分析:恐伤肾及精,大恐直伐肾水,耗及肾精,肾亏母鼠自然生殖能力大幅度降低或不能生殖。失于藏精,造成后代先天不足,雌鼠活力低下,饥而怯于取食,难于补偿精气,这从巷道取食测试中可见一个侧面。

恐伤肾及气,“恐则气下”,母鼠正常气机失调,肾气不充,难于聚气成胎,聚精养胎,胎鼠发育受到严重影响,初生鼠体质偏弱,体重偏轻,母鼠本身当倒悬挂尾时不利体位,心肾之气失交,心神难明而静止不动时间增多,从尾悬挂测试可见这一现象。

恐伤肾及神,肾在志为恐,大恐不节则伤肾,孕鼠天敌威胁着生命,神气大伤,肾志不藏而外泄,从实验中小白鼠惶恐失神的表现可以说明这点。我们还注意到行为遗传学上用二便计数来反应情绪指标的方法^[5],在巷道取食测试的过程中,恐吓组每只鼠平均排大粪的粒数较对照组为多,这在实验心理学看作情绪性升高的标志之一。中医理论认为,肾主蛰,为封藏之本,司二阴二便,恐吓组母鼠排粪量增多,是肾志不藏,精气泄失的表现。

对于“肾为先天之本”^[6]的研究,行为遗传测试是必不可少的,因为由此可以求得心理行为的宏观表征。当然对于行为遗传在生理生化方面的微观研究^[6],我们也在进行,只有这样,才能进一步拓展“肾为先天之本”这一研究课题的深度和广度。

4 参考文献

- 1 匡调元主编. 中医实验病理学. 上海:上海科学普及出版社, 1995: 181.
- 2 Thompson WR. Science 1957;125: 698.
- 3 李仪奎主编. 中医药理实验方法学. 上海:上海科技出版社, 1991: 33.
- 4 陈昌惠. 应激与健康. 中国心理卫生杂志 1991;1(5): 227.
- 5 斯托曼著, 张燕云译. 情绪心理学. 沈阳:辽宁人民出版社, 1986: 289.
- 6 王米渠. “肾为先天之本”遗传学新解. 美国中医科学 1995;2(11): 1.
- 7 王米渠, 等. “恐伤肾”对小白鼠红细胞免疫及免疫器官的影响. 成都中医药大学学报 1996;19(2): 34.

本课题系国家自然科学基金资助项目(批准号 39570848)